doi:10.13866/j.azr.2019.04.15

野大麦对干旱胁迫的生理响应与转录组分析①

宋士伟[1]，焦德志[1]，陈旭[1]，赵泽龙[1]，杨允菲[2]

（1. 齐齐哈尔大学生命科学与农林学院，抗性基因工程与寒地生物多样性保护黑龙江省重点实验室，黑龙江 齐齐哈尔 161006；
2. 东北师范大学草地科学研究所，植被生态科学教育部重点实验室，吉林 长春 130024）

摘　要：为了研究野大麦在干旱胁迫下的生理响应以及发掘耐旱性相关基因，对不同浓度聚乙二醇（PEG）6000 胁迫条件下的野大麦幼苗进行生理指标测定及转录组测序分析。结果表明：不同浓度 PEG 6000 胁迫 2 d 后，野大麦叶片脯氨酸含量呈连续上升趋势，可溶性糖及超氧化物歧化酶（SOD）活性呈先上升后下降趋势。通过隶属函数法选取 30 mmol · L^{-1}PEG 6000 处理组野大麦叶片进行转录组分析测序，与对照组相比上调表达基因 6 868 个，下调表达基因 2 081 个；对差异表达基因进行 GO（gene ontology，基因本体）功能分类，可以分为 3 大类并包含 54 个功能组；通过 KEGG 通路富集将 6 579 个差异表达基因富集到 136 个通路中，主要包括精氨酸和脯氨酸代谢、糖酵解和糖异生、淀粉和蔗糖代谢、过氧化物酶体等途径，并发掘了各个代谢途径中相关上调表达基因。

关键词：野大麦；干旱胁迫；生理响应；转录组测序；扎龙湿地；松嫩平原

干旱是指自然环境中水分缺失的现象，而植物生长发育过程中需要大量的水分，其在生长过程中对水分亏缺的适应就是植物的抗旱性[1]。受气候和人为因素的影响，土壤干旱日趋恶化，从而导致植物基因表达及细胞代谢发生改变，对草原和农牧业生产造成越来越大的威胁。世界陆地面积有 1/3 是干旱及半干旱区域，对植物生产及经济发展造成巨大影响，提高植物抗旱性成为当今研究的热点问题[2-3]。

松嫩平原位于我国东北部，属半干旱地区，是我国重要的农牧业产品生产地[4]。由于自然因素及人为因素的共同影响，松嫩平原西北部扎龙湿地的缓冲区形成以旱生植物为主的草甸草原[5-6]，并且在大部分区域内有野大麦（*Hordeum brevisubulatum*）的集群分布。野大麦又叫野黑麦、短芒大麦等，主要分布在我国东北、蒙古以及西伯利亚等地区，是多年生的禾本科大麦属优良牧草并有一定耐旱性，具有营养丰富、茎叶柔软、适口性好等特点，适合喂养家畜，有较高的农业经济价值[7]。

植物对干旱环境的响应过程具有复杂性。植物通过生理代谢过程的改变应对不良环境，而分子机制研究能更好地阐释植物抗旱性，也是培育优良抗旱品种的实验基础。快速发展的高通量测序技术是在分子生物学层面揭示基因表达调控的有力工具，转录组测序技术（RNA-Seq）就是其中一种方法。已经通过转录组测序技术对模拟干旱胁迫后野生大豆（*Glycine soja*）[8]、旱地早熟禾（*Poa pratensis*）[9]、枇杷（*Eriobotrya japonica*）[10]等植物体内基因表达状况进行了研究，差异表达基因广泛涉及糖、脂类、蛋白和核酸等生物大分子代谢，次生产物代谢及能量代谢等过程，并且通过代谢途径的定位发现植物－病原体互作、糖酵解/糖异生、植物激素信号转导等代谢途径在干旱胁迫下变化明显。目前，野大麦抗逆性的研究主要集中在生理响应方面，更多关注逆境环境下的渗透调节及抗氧化酶活性，少有人利用高通量测序技术对野大麦逆境环境下基因表达进行研究，对野大麦抗逆性相关基因的发掘工作还不够深入。本研究通过聚乙二醇（PEG）6000 来模拟干旱环境，利用转录组测序技术分析野大麦受干旱胁迫后体内基因表达水平，发掘相关抗旱基因，探寻抗旱分子机制，在理论上能丰富野大麦抗旱性内容，在实践中对野大麦近缘物种的分子育种及发展农牧业经济有重要意义。

① **收稿日期：**2018-10-30；　**修订日期：**2019-01-12
基金项目：国家自然科学基金项目（31672471）；齐齐哈尔大学研究生创新科研项目（YJSCX2017-028X）
作者简介：宋士伟（1995-），男，硕士研究生，研究方向为植物逆境生理学与分子生物学. E-mail：1312490123@qq.com
通讯作者：焦德志. E-mail：jdz_13909@163.com

1 材料与方法

1.1 种子采集

2017 年 9 月，于扎龙湿地缓冲区草甸草原（124°14′19″E，47°11′41″N）采集野大麦种子，带回实验室自然风干后备用。

1.2 培养与胁迫

将野大麦种子放入水中浸泡 24 h，使用土：蛭石（V：V）=3：1 的基质培养至株高 25 cm 左右，处理组使用 1/2 霍格兰营养液作为溶剂配置聚乙二醇（PEG）6000 胁迫液进行胁迫，浓度分别为 10、20、30、40、50 mmol·L^{-1}，对照组使用 1/2 霍格兰营养液培养，各处理组 3 次重复，处理时间为 2 d。

1.3 生理指标的测定

胁迫 2 d 后取野大麦叶片进行生理指标的测定，采用酸性茚三酮法[11]测定脯氨酸含量，蒽酮比色法[12]测定可溶性糖含量，NBT 光化还原法[13]测定超氧化物歧化酶（SOD）活性。

1.4 转录组测序及数据组装

将送检组每组 3 次重复充分混合为 1 个测序样品，装入冻存管中做好标记，放入液氮中速冻，然后迅速置于足量干冰中，密封好后送往武汉华大基因公司，采用 Illumina（HiSeq X-Ten）平台进行测序。

将低质量读数、未知碱基 N 含量大于 5% 的读数及接头污染的读数去除，以得到过滤后读数。使用 Trinity（V2.0.6 版本）对过滤后读数进行 De novo 组装，然后使用 Tgicl（V2.0.6 版本）将组装的转录本进行聚类去冗余，得到 Unigene。使用 Blast 2 GO 进行 GO（gene ontology，基因本体）注释，使用 Blast 进行 KEGG 注释。

1.5 生理指标数据分析

对生理指标数据采用 SPSS 20.0 进行比较分析（$P<0.05$），数据均为平均数 ± 标准差，使用 Graphpad 6.0 进行图表绘制。采用隶属函数法综合评价不同 PEG 浓度对野大麦幼苗叶片生理指标的影响。隶属函数计算公式：

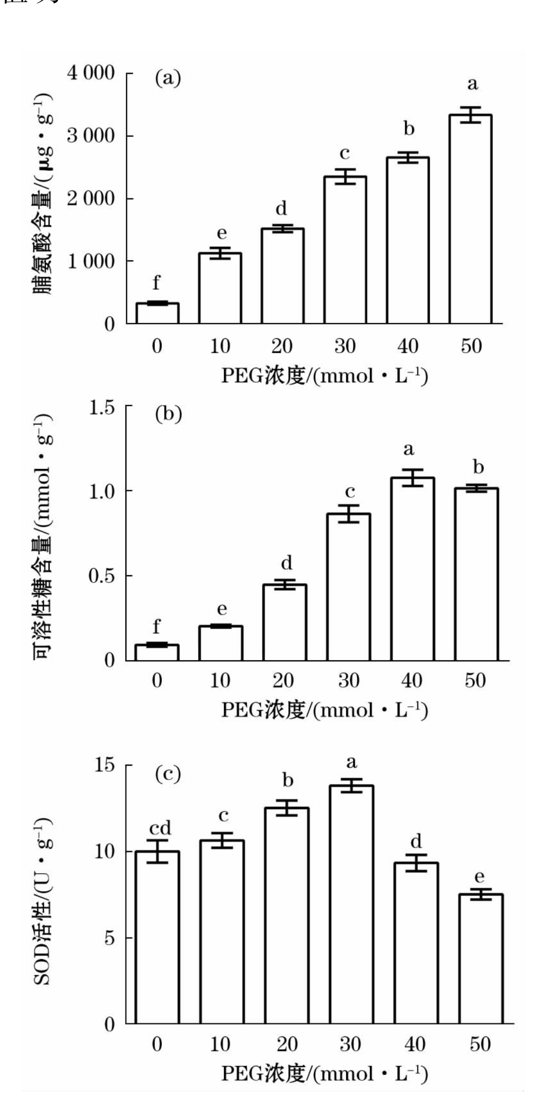
$$R=(X_i-X_{min})/(X_{max}-X_{min})$$

式中：X_i 为某生理指标测定值；X_{max}、X_{min} 为某生理指标中的最大值、最小值；X_i、X_{max} 及 X_{min} 均由 3 次重复数据取平均数得出。

2 结果与分析

2.1 生理指标的测定

干旱胁迫 2 d 后，随 PEG 浓度的增加野大麦叶片脯氨酸含量呈持续上升趋势，在 50 mmol·L^{-1} 处理组达到最大值，为（3 341.16 ± 120.11）μg·g^{-1}，与 PEG 浓度呈正相关；可溶性糖含量呈先上升后下降趋势，在 40 mmol·L^{-1} 处理组达到最大值，为（1.08 ± 0.05）mmol·g^{-1}；SOD 活性呈先上升后下降趋势，在 30 mmol·L^{-1} 处理组达到最大值，为（7.54 ± 0.30）U·g^{-1}（图 1）。表明在一定程度干旱胁迫下野大麦会提高渗透调节物质及 SOD 活性以应对逆境。对经 PEG 处理的 3 个生理指标进行隶属函数分析（表 1），不同浓度的隶属函数综合评价 值 为 30 mmol·L^{-1} > 40 mmol·L^{-1} > 50 mmol·



注：SOD 指超氧化物歧化酶，PEG 指聚乙二醇。

图 1 生理指标测定结果

Fig. 1 Measured results of physiological indexes

$L^{-1}>20\ mmol\cdot L^{-1}>10\ mmol\cdot L^{-1}>0\ mmol\cdot L^{-1}$,表明 30 mmol · L^{-1}的 PEG 处理对野大麦生理影响较大,因此,选取对照组与 30 mmol · L^{-1}处理组进行转录组测序,以对差异表达基因进行分析。

2.2 测序数据过滤及组装

原始数据中包含低质量读数等成分(表 2),将其过滤后对照与处理组分别得到过滤后读数 44.93 Mb、45.36 Mb,Q20 分别为 98.71%、98.81%(表 3)。过滤后读数经组装后的转录本进行去冗余得到单基因,对照与处理组分别获得 61 038、76 345 个单基因,平均长度分别为 898、834 bp,N50 值分别为 1 468、1 391,GC 碱基比例分别为 51.69%、51.73%(表 4),测序数据质量较高,符合进一步进行生物信息学分析的要求。

2.3 基因表达情况

根据基因表达情况可知,对照与处理组中高水平表达基因数量分别为 9 338、10 293 个。对照中特异表达基因 7 443 个,处理组中特异表达基因 17 783 个,组间共同表达基因 52 718 个。相对于对照,处理组中上调表达基因 6 868 个,下调表达基因 2 081 个,非差异基因 68 995 个。

表 1 野大麦幼苗叶片生理指标隶属值

Tab. 1 Subordinate values of physiological indicators in leaves of *Hordeum brevisubulatum* seedlings

指标	聚乙二醇(PEG)浓度/(mmol · L^{-1})					
	0	10	20	30	40	50
脯氨酸含量	0	0.27	0.40	0.67	0.77	1.00
可溶性糖含量	0	0.11	0.36	0.79	1.00	0.94
超氧化物歧化酶(SOD)活性	0.42	0.43	0.83	1.00	0.23	0
综合隶属值	0.42	0.81	1.58	2.46	2.01	1.94

表 2 原始数据成分

Tab. 2 Raw data component

组 别	对 照	处理组
未知碱基含量大于 5% 的读数	4 860(0.01%)	5 820(0.01%)
被污染的读数	3 455 610(6.61%)	3 518 950(6.73%)
低质量读数	3 857 692(7.38%)	3 369 156(6.45%)
过滤后读数	44 932 572(85.99%)	45 356 850(86.81%)

表 3 过滤后读数质量统计

Tab. 3 Statistic results of the reading quality after filtration

样品	对照组	处理组
过滤前读数/Mb	52.25	52.25
过滤后读数/Mb	44.93	45.36
过滤后总碱基数/Gb	6.74	6.80
Q20/%	98.71	98.81
Q30/%	98.89	96.19
过滤后读数比例/%	85.99	86.81

注:Q20 和 Q30 分别为过滤后读数中质量值大于 20 和 30 的碱基数占总碱基数的百分比。

表 4 Unigene 质量指标

Tab. 4 Unigene quality indicators

样品	对照组	处理组
总数	61 038	76 345
总长度/bp	54 844 657	63 684 871
平均长度/bp	898	834
N50	1 468	1 391
N70	903	811
N90	357	323
GC 碱基比例/%	51.69	51.73

注:N50 用于衡量组装的连续性,数值越大说明组装效果越好,按转录本长度从大到小排序后逐个累加至所有转录本总长度的 50% 时,最后一个累加的数值大小即为 N50。N70、N90 参考 N50。

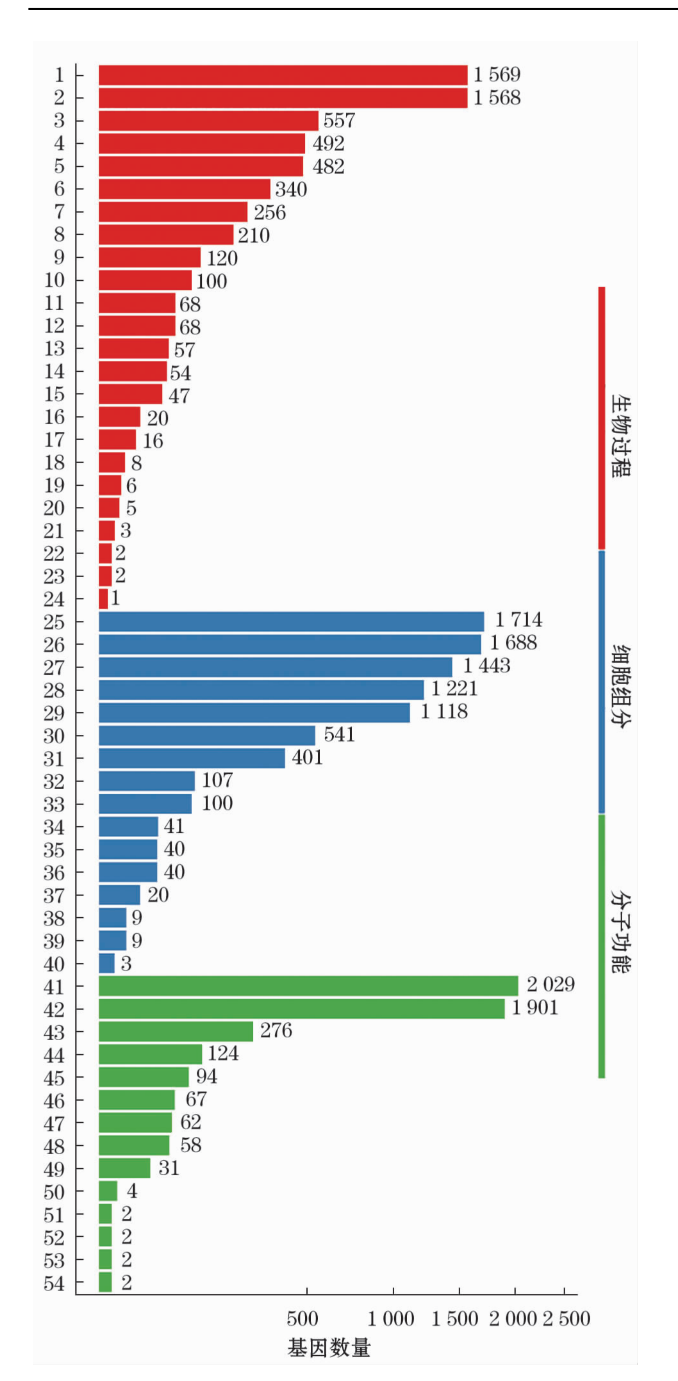
2.4 差异表达基因 GO 功能分析

根据差异基因检测结果,对差异表达基因进行 GO(gene ontology,基因本体)功能分类,结果表明差异表达基因分为 54 个功能组,主要分为生物过程(24 组,6 004 个基因)、细胞组分(16 组,8 495 个基因)、分子功能(14 组,4 654 个基因)3 大类(图 2),主要涉及生物过程中细胞过程(1 569 个)、代谢过程(1 568 个),细胞组分中细胞(1 714 个)、细胞部分(1 688 个)、膜(1 443 个)、膜部分(1 221 个)、细胞器(1 118 个),以及分子功能中催化活性(2 029 个)、结合(1 901 个)等,通过差异表达基因数据所占比例可以初步认为,干旱胁迫对以上生物学功能产生明显的影响。

在差异基因 GO 功能分类基础上,对差异表达基因进行 GO 功能上下调(图 3)分析发现,野大麦生长发育过程中生物过程内细胞过程、代谢过程、生物调节;细胞组分内细胞、细胞部分、膜、膜部分;分子功能内催化活性、结合、转导活性等功能组基因上调基因数量大于下调,干旱胁迫对这些功能组基因的促进作用大于抑制作用。在节律过程、细胞增殖、氮利用等功能组中下调基因数量大于上调,干旱胁迫对这些功能组基因具有一定的抑制作用。

2.5 差异表达基因 KEGG 功能分析

对差异表达基因进行 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,京都基因和基因组百科全书)功能分类,可分为成细胞过程(红色,340 个基因)、环境信息处理(蓝色,366 个基因)、遗传信息处



注:1. 细胞过程;2. 代谢过程;3. 生物调节;4. 刺激响应;5. 生物过程调节;6. 定位;7. 细胞成分的组织或生物合成;8. 信号;9. 发育过程;10. 多细胞生物过程;11. 繁殖;12. 繁殖过程;13. 生物过程的负调控;14. 生物过程的正调控;15. 多有机体过程;16. 生长;17. 免疫系统过程;18. 生物粘附;19. 节律过程;20. 细胞增殖;21. 运动;22. 碳利用;23. 排毒;24. 氮利用;25. 细胞;26. 细胞部分;27. 膜;28. 膜部分;29. 细胞器;30. 细胞器部分;31. 大分子复合物;32. 胞外区; 33. 膜的封闭腔;34. 细胞外区域部分;35. 细胞连接;36. 共质体;37. 超分子复合物;38. 病毒粒子;39. 病毒粒子部分;40. 类核;41. 催化活性;42. 结合;43. 转导活性;44. 结构分子活性;45. 转录调节活性;46. 信号转导活性;47. 分子调节功能;48. 分子转导活性;49. 抗氧化剂活性;50. 营养储藏活动;51. 分子载体活性;52. 蛋白质标签;53. 毒素活性;54. 翻译调节器活动。下同。

图 2 差异基因 GO 功能分类

Fig. 2 Functional classification of differential gene GO

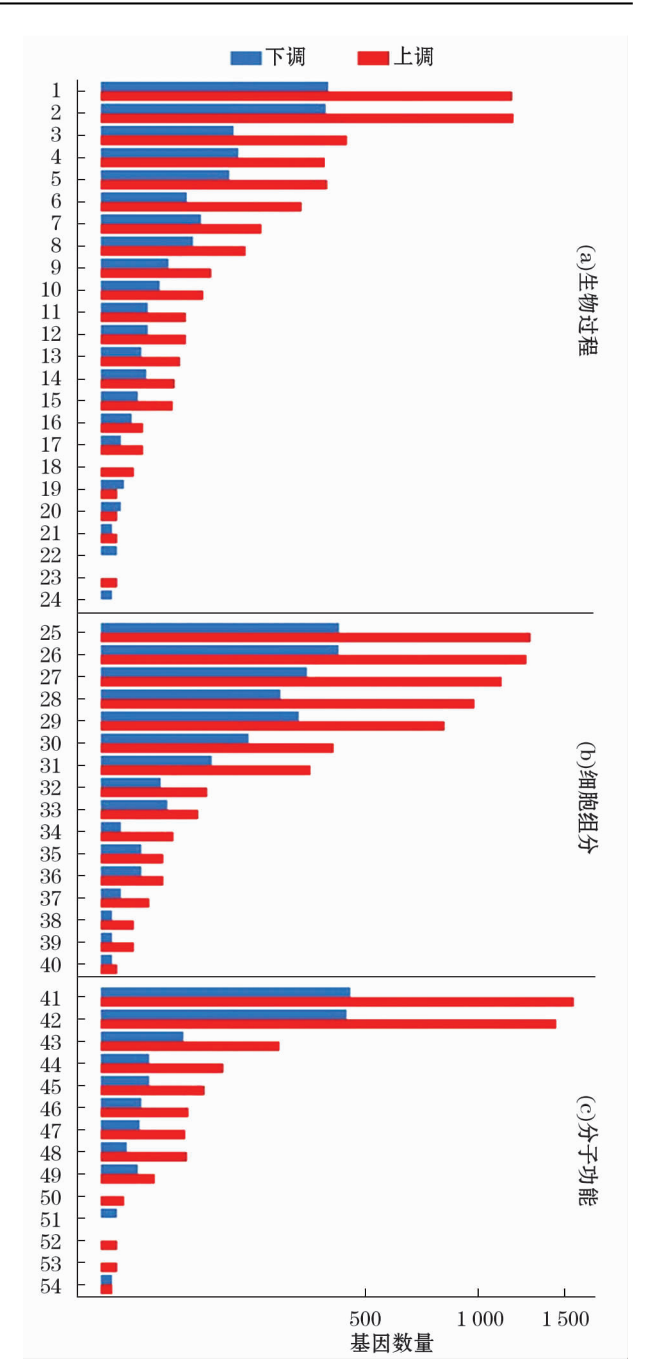


图 3 差异基因上下调 GO 功能分类

Fig. 3 Functional classification of differential gene up- and down-regulated GO

理(绿色,1 369 个基因)、代谢(紫色,3 802 个基因)及有机系统(橙色,478 个基因)5 大类(图 4),其中遗传信息处理及代谢 2 个大类富集到的基因较多,主要涉及翻译、折叠、分选和降解、碳水化合物代谢、其他次生代谢产物代谢、脂质代谢及氨基酸代谢等。

从通路富集角度分析可以了解差异表达基因的生物学功能,本研究中 6 579 个差异表达基因富集到 136 个通路中,通过显著性富集可以确定差异基因参与的最重要的植物信号转导途径和生化代谢途

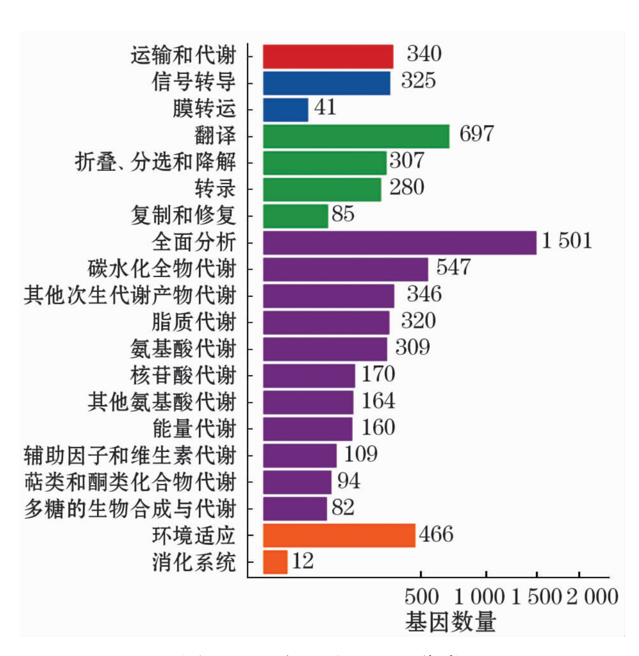


图 4　差异基因 KEGG 分类

Fig. 4　Classification of differential gene KEGG

表 5　差异基因富集的 20 条 KEGG 通路

Tab. 5　20 KEGG pathways with DEGs enrichment

代谢通路注释	注释到该通路的差异基因（占注释到 KEGG 通路中差异基因总数比）	代谢通路编号
精氨酸和脯氨酸代谢	62(0.94%)	ko00330
糖酵解/糖异生	100(1.52%)	ko00010
代谢途径	1 408(21.40%)	ko01100
次生代谢物的生物合成	814(12.37%)	ko01110
磷酸戊糖途径	51(0.78%)	ko00030
植物激素信号转导	165(2.51%)	ko04075
淀粉和蔗糖代谢	131(1.99%)	ko00500
氨基酸的生物合成	129(1.96%)	ko01230
光合作用	24(0.36%)	ko00195
蛋白酶体	30(0.46%)	ko03050
过氧化物酶体	51(0.78%)	ko04146
氧化磷酸化	48(0.73%)	ko00190
核糖体	125(1.90%)	ko03010
氧化磷酸化	48(0.73%)	ko00190
半乳糖代谢	75(1.14%)	ko00052
柠檬酸循环(TCA 循环)	39(0.59%)	ko00020
谷胱甘肽代谢	68(1.03%)	ko00480
碳代谢	151(2.30%)	ko01200
氨基糖和核苷酸糖代谢	119(1.81%)	ko00520
内质网中的蛋白质加工	152(2.31%)	ko04141

径,直观发现干旱胁迫对野大麦体内相关生物过程产生的明显影响(表 5),包括精氨酸和脯氨酸代谢、糖酵解和糖异生、次生代谢产物的生物合成、植物激素信号转导、淀粉和蔗糖代谢、过氧化物酶体等途径。对这些代谢途径进行分析发现,各个代谢途径中均有相关基因上调表达。

3　讨 论

植物在遭受渗透胁迫的情况下,通过大量合成并积累渗透调节物质能够维持体内渗透压,使之与外界环境保持相对平衡,使细胞能够在较低的外界环境水势下吸水,以维持正常细胞生长所需膨压。脯氨酸、可溶性糖是较为常规的渗透调节物质,在维持细胞渗透压相对稳定上发挥作用[14],并且能够保护细胞膜等相关结构以及为一些生化反应提供反应底物。本研究中随着 PEG 浓度的升高,脯氨酸、可溶性糖含量大体呈上升趋势,与前人研究结果相似[15-17],但可溶性糖在高浓度 PEG 胁迫时出现下降趋势,说明此时细胞结构破坏严重,渗透调节物质合成受到影响,且渗透调节的作用减弱。

在植物遭受逆境胁迫时,体内一些生化反应会产生大量的活性氧(ROS),对细胞结构及其他生物过程有巨大的影响,而过氧化物酶体会对植物体内 ROS 进行清除,以维持细胞内部环境动态平衡,其中超氧化物歧化酶(SOD)就是过氧化物酶体的一种[18]。SOD 是植物体内清除 ROS 的第一道防线,在酶系统中处于核心地位,一般来说在干旱胁迫环境下,植物体内的 SOD 活性与抗氧化能力呈正相关[19],但在本研究中随 PEG 浓度的增加,SOD 活性呈先上升后下降趋势,这与李雪等[20]进行小黑麦(*Triticosecale wittmack*)耐旱性研究的结果相似。产生这种差异的原因不单纯与水分亏缺有关,可能还与其他较为复杂的生理生化反应有关。

渗透调节物质积累与抗氧化酶活性升高,从根本上说就是基因表达的结果,通过隶属函数法选取 30 mmol·L^{-1} PEG 处理组进行转录组测序,对差异表达基因进行 GO 功能注释,多数功能组中上调基因数量大于下调,说明一定程度干旱胁能促进某些功能基因上调表达,通过差异表达基因数据所占比例可以初步认为,干旱胁迫对野大麦生物学功能产生明显的影响。对差异基因进行 KEGG 注释,并富集到 136 个通路中,可以直观看出干旱胁迫对野大麦叶片内相关反应过程产生明显影响。在脯氨酸两条主要合成途径中谷氨酸激酶(ProB)、谷氨酸 -5 -半醛脱氢酶(ProA)、鸟氨酸转氨酶(OAT)的编码基因上调表达,这 3 种酶均为脯氨酸合成途径中的关键酶[21],与脯氨酸含量增加有显著的相关性,但并

未发现报道较多的吡咯-5-羧酸合成酶(P5CS)上调表达,或许与不同物种、不同器官、不同发育阶段有关。已糖激酶(HK)、果糖激酶(scrK)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、蔗糖合成酶(SUS)编码基因上调表达,这些基因主要涉及果糖和甘露糖代谢、蔗糖和淀粉代谢以及糖酵解/糖异生途径,糖类物质是植物体内重要的碳源及能源物质,参与植物体生长发育各个过程,干旱胁迫会影响碳水化合物的分配,尽管干旱胁迫下碳元素的同化量下降,但这个时候有关糖类合成及利用的相关酶基因上调表达,使可溶性糖类含量增加,能够维持细胞内较高渗透势,提升植株的吸水能力,同时能为细胞膜系统提供一种保护。SOD 在清除氧自由基,防止氧自由基对细胞结构产生破坏方面具有非常重要的作用,本研究中测序结果显示 SOD 编码基因上调表达,说明干旱胁迫能够诱导野大麦体内 SOD 编码基因表达,增强植物抗氧化能力以减少胁迫对植物的损害,这一结果与刘家林等[22]在对水稻 SOD 基因家族在逆境环境下的表达研究中相似,表明 SOD 编码基因受非生物胁迫诱导表达,通过合成 SOD 来清除 ROS,从而维持细胞结构不被破坏,以及为相关生化反应提供相对稳定的环境。

从目前研究成果来看,野大麦遭受干旱胁迫时,会提高渗透调节物质相关酶基因的转录水平积累渗透调节物质含量,同时提高抗氧化酶基因转录水平,提升抗氧化酶活性等方式来适应干旱胁迫,当然,通过转录组测序分析还有许多基因与野大麦耐旱性相关,接下来会进一步进行耐旱相关基因的发掘。目前在很多种植物体内找到大量的与抗旱性相关基因,但多为研究单一基因作用,而植物抗旱过程是一个多基因参与、多种代谢过程相互影响的复杂过程,研究多种基因的共同作用将是未来的研究热点。

参考文献(References):

〔1〕 赖金莉,李欣欣,薛磊,等. 植物抗旱性研究进展〔J〕. 江苏农业科学,2018,46(17):23-27.〔Lai Jinli, Li Xinxin, Xue Lei, et al. Advances in research on plant drought resistance〔J〕. Jiangsu Agricultural Sciences,2018,46(17):23-27.〕

〔2〕 刘晓静,马东来,张继权,等. 辽西北地区玉米干旱的识别方法〔J〕. 干旱区研究,2018,35(3):722-727.〔Liu Xiaojing, Ma Donglai, Zhang Jiquan, et al. Identification method of maize drought in Northwest Liaoning Province〔J〕. Arid Zone Research,2018,35(3):722-727.〕

〔3〕 Fang Y J, Xiong L Z. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants〔J〕. Cellular and Molecular Life Sciences,2015,72(4):673-689.

〔4〕 张文超,王玉凤,张翼飞,等. 耕作方式对松嫩平原半干旱区土壤养分含量和玉米产量的影响〔J〕. 作物杂志,2017(4):123-128.〔Zhang Wenchao, Wang Yufeng, Zhang Yifei, et al. Effects of different tillage methods on changes of soil nutrients and grain yield of maize in semi-arid regions of Songnen Plain〔J〕. Crops,2017(4):123-128.〕

〔5〕 张玉红,张树清,苏立英. 基于3S的扎龙湿地土地盐碱化趋势分析. 农业系统科学与综合研究,2010,26(2):140-144.〔Zhang Yuhong, Zhang Shuqing, Su Liying. Analysis of basification trend at Zhalong Wetland based on 3S〔J〕. System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture,2010,26(2):140-144.〕

〔6〕 罗金明,王永洁,柏林,等. 扎龙盐沼湿地旱化特征及其对演替的影响〔J〕. 干旱区研究,2018,35(5):1 167-1 172.〔Luo Jinming, Wang Yongjie, Bai Lin, et al. Effect of drought stress on succession of the Zhalong Wetland〔J〕. Arid Zone Research,2018,35(5):1 167-1 172.〕

〔7〕 焦德志,宋士伟. 扎龙湿地野大麦对 NaCl 胁迫的生理响应〔J〕. 黑龙江畜牧兽医,2018(15):147-150.〔Jiao Dezhi, Song Shiwei. The physiological response of Hordeum brevisubulatum to NaCl stress in Zhalong Wetland〔J〕. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine,2018(15):147-150.〕

〔8〕 张小芳,王冰冰,徐燕,等. PEG 模拟干旱胁迫下野生大豆转录组分析〔J〕. 大豆科学,2018(5):681-689.〔Zhang Xiaofang, Wang Bingbing, Xu Yan, et al. The Transcriptome analysis of wild soybean under drought stress simulated by PEG〔J〕. Soybean Science,2018(5):681-689.〕

〔9〕 冷暖,刘晓巍,张娜,等. 草地早熟禾干旱胁迫转录组差异性分析〔J〕. 草业学报,2017,26(12):128-137.〔Leng Nuan, Liu Xiaowei, Zhang Na, et al. Differential gene analysis of *Poa pratensis* in response to drought stress〔J〕. Acta Prataculturae Sinica,2017,26(12):128-137.〕

〔10〕 王丹,龚荣高. 干旱胁迫下枇杷叶片的转录组分析〔J〕. 华北农学报,2017,32(1):60-67.〔Wang Dan, Gong Ronggao. Transcriptome profiling of *Loquat Leaves* under drought stress〔J〕. Acta Agriculturae Boreali-Sinica,2017,32(1):60-67.〕

〔11〕 刘志洋. 游离脯氨酸含量测定法比较宿根花卉抗寒性〔J〕. 黑龙江农业科学,2016(11):102-105.〔Liu Zhiyang. Cold resistance comparison of perennial flowers by determination of free proline content〔J〕. Heilongjiang Agricultural Sciences,2016(11):102-105.〕

〔12〕 王法琴,陆兔林,毛春芹,等. 3 种比色法测定五味子中多糖〔J〕. 中成药,2015,37(4):814-818.〔Wang Faqin, Lu Tulin, Mao Chunqin, et al. Determination of polysaccharides from *Schisandrae chinensis* Fructus by three colorimetric method〔J〕. Chinese Traditional Patent Medicine,2015,37(4):814-818.〕

〔13〕 曲敏,秦丽楠,刘羽佳,等. 两种检测 SOD 酶活性方法的比较〔J〕. 食品安全质量检测学报,2014,5(10):3 318-3 323.〔Qu Min, Qin Linan, Liu Yujia, et al. The comparison of two methods of testing superoxide dismutase activity〔J〕. Journal of Food Safety & Quality,2014,5(10):3 318-3 323.〕

〔14〕 赵江涛,李晓峰,李航,等. 可溶性糖在高等植物代谢调节中的生理作用〔J〕. 安徽农业科学,2006,34(24):6 423-6 425,6 427.〔Zhao Jiangtao, Li Xiaofeng, Li Hang, et al. Research on the

role of the soluble sugar in the regulation of physiological metabolism in higher plant〔J〕. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2006,34(24):6 423 -6 425,6427.〕

〔15〕冯淑华,陈雅君,周阳. 干旱胁迫下三叶草渗透调节物质动态及与叶片水分的相关性〔J〕. 中国草地学报,2011,33(6):70 -74.〔Feng Shuhua, Chen Yajun, Zhou Yang. Correlation analysis between dynamic change of osmoregulation substance and moisture in leaves of clovers under drought stress〔J〕. Chinese Journal of Grassland,2011,33(6):70 -74.〕

〔16〕刘艳,陈贵林,蔡贵芳,等. 干旱胁迫对甘草幼苗生长和渗透调节物质含量的影响〔J〕. 西北植物学报,2011,31(11):2 259 -2 264.〔Liu Yan, Chen Guilin, Cai Guifang, et al. Growth and osmoregulation substances accumulation of *Glycyrrhiza uralensis* seedling under drought stress〔J〕. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica,2011,31(11):2 259 -2 264.〕

〔17〕许翩翩,王建柱. 三种常见边坡植物对模拟干旱环境抗旱性能的研究〔J〕. 草业学报,2018,27(2):36 -47.〔Xu Pianpian, Wang Jianzhu. Drought resistance of three common slope plants determined in a simulated drought experiment〔J〕. Acta Prataculturae Sinica,2018,27(2):36 -47〕

〔18〕崔慧萍,周薇,郭长虹. 植物过氧化物酶体在活性氧信号网络中的作用〔J〕. 中国生物化学与分子生物学报,2017,33(3):220 -226.〔Cui Huiping, Zhou Wei, Guo Changhong. The role of plant peroxisomes in ROS signalling network〔J〕. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology,2017,33(3):220 -226.〕

〔19〕Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase〔J〕. plant physiology,1993,101(1):7 -11.

〔20〕李雪,田新会,杜文华. 小黑麦品系成株期抗旱性研究〔J〕. 核农学报,2018,32(2):377 -388.〔Li Xue, Tian Xinhui, Du Wenhua. Study on drought resistance of triticale lines at the adult plant stage〔J〕. Journal of Nuclear Agricultural Sciences,2018,32(2):377 -388.〕

〔21〕Kishor P B K, Sangam S, Amrutha R N, et al. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance〔J〕. Current Science,2005,54(4):271 -275.

〔22〕刘家林,欧阳林娟,曾嘉丽,等. 水稻 SOD 基因家族的全基因组分析及逆境胁迫下表达研究〔J〕. 分子植物育种,2018,16(9):2 753 -2 760.〔Liu Jialin, Ouyang Linjuan, Zeng Jiali, et al. Genome-wide analysis of rice SOD gene family and expression research under stress〔J〕. Molecular Plant Breeding,2018,16(9):2 753 -2 760.〕

Physiological Response and Transcriptome of *Hordeum brevisubulatum* to Drought Stress

SONG Shi-wei[1], JIAO De-zhi[1], CHEN Xu[1], ZHAO Ze-long[1], YANG Yun-fei[2]

(1. *Heilongjiang Key Laboratory of Resistance Gene Engineering and Preservation of Biodiversity in Cold Area, College of Life Science, Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar*, 161006, *Heilongjiang, China*;
2. *Key Laboratory of Vegetation Ecology under Ministry of Education, Institute of Grassland Science, Northeast Normal University, Changchun* 130024, *Jilin, China*)

Abstract: The physiological response of *Hordeum brevisubulatum* to drought stress was researched so as to identify the drought tolerance related to the genes, physiological indexes and transcriptome sequencing of *H. brevisubulatum* seedlings under different concentrations of polyethylene glycol (PEG) 6000 stress. The results showed that the content of proline in leaves of *H. brevisubulatum* was increased continuously after the PEG 6000 stress for 2 days, and the activity of soluble sugar and superoxide dismutase (SOD) was increased at first and then decreased. The membership function method was used to select the transcriptome analysis and sequencing of *H. brevisubulatum* leaves under the treatment of 30 mmol · L^{-1} PEG 6000. Compared with the control group, the 6 868 up-regulated genes and 2 081 down-regulated genes were identified. The differentially expressed genes were classified into three categories and 54 functional groups by Go function classification. The 6 579 differentially expressed genes were enriched into 136 pathways by KEGG pathway enrichment. Arginine and proline metabolism, glycolysis and gluconeogenesis, starch and sucrose metabolism, peroxisome pathways and other pathways, and the related up-regulated expression genes in various metabolic pathways were discovered.

Key words: *Hordeum brevisubulatum*; drought stress; physiological response; RNA-Seq; Zhalong Wetland; Songnen Plain